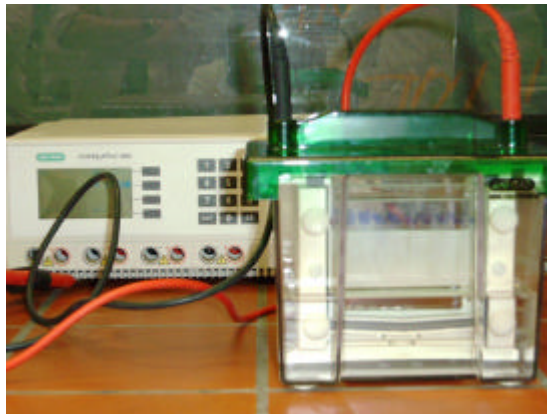


Stephanie [REDACTED]
BTA-OH
Gruppe A, Arbeitsplatz 5
Partner: Martin [REDACTED]

Versuch vom 06./07.02.2003

„SDS-PAGE“

(Sodium Dodecyl Sulfat – Poly Acrylamid Gel Elektrophorese)



Biochemisches Praktikum

Berufskolleg Kartäuserwall
Kartäuserwall 30, Köln

bei: Fr. Ulrike Schlicher

Herstellung eines SDS-Gels und Durchführung einer Polyacrylamid-Gelelektrophorese

Theorie / Prinzip des Versuchs

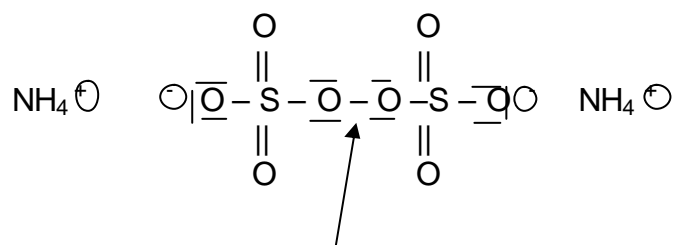
In diesem Versuch wollen wir Proteine mittels SDS-PAGE auftrennen und das Molekulargewicht von Rinderserumalbumin (BSA) ermitteln. Bei der SDS-PAGE handelt es sich um eine Elektrophorese-Methode, mit der Proteine nach ihrem Molekulargewicht aufgetrennt werden. **Elektrophorese** ist die Wanderung geladener Teilchen in einem elektrischen Feld. Anionen wandern zur **Anode = Pluspol**, Kationen wandern zur **Katode = Minuspol**.

Zur Analyse von Proteinen hat sich die Methode der **diskontinuierlichen Zonenelektrophorese** durchgesetzt. Heute verwendet man am häufigsten die SDS-PAGE, die 1970 von Laemmli entwickelt wurde. Diskontinuierlich ist sie, weil sie sich aus zwei unterschiedlichen Gelen zusammensetzt:

Sammelgel grobporig, pH 6,8 / Trenngel feinporig, pH 8,8
Probe und Gele Cl⁻-Ionen / Elektrodenpuffer Glycin-Ionen

Das Gel unterteilt sich also in zwei Abschnitte – ein **Sammelgel (stacking gel)** oben und ein **Trenngel (resolving gel)** unten. Das Sammelgel macht nur einen relativ kleinen Anteil des Gels aus. Es enthält viel weniger Acrylamid als das Trenngel (nur bis zu 4%), ist grobporiger als dieses und bewirkt, dass die Probe aus der Probentasche im Gel fokussiert wird: sie wandert schnell durch das Sammelgel und bildet an der Trennlinie zum Trenngel eine scharfe Linie, damit möglichst das gesamte Protein gleichzeitig ins Gel gelassen wird. Dieser Effekt entsteht durch die unterschiedlichen Ionen in den Gelen und im Elektrodenpuffer. Die Proteine werden zwischen den schneller wandernden Cl⁻-Ionen und den langsamer wandernden Glycin-Ionen eingequetscht und gestaucht. Aufgrund des pH's von 6,8 liegt das Glycin im Sammelgel als Zwitterion vor und wandert nur langsam. Im Trenngel dann bei pH 8,8 überholt das Glycin die Proteine. Das Trenngel dann ist viel feinporiger. Durch den Gehalt an Acrylamid kann man die Porengröße noch variieren, je nachdem ob man eher kleine oder eher große Proteine trennen will (8-12%).

Polyacrylamidgele haben sich in der Elektrophorese von Proteinen durchgesetzt. Diese Proteine sind sehr dünn, etwa 2 mm Schichtdicke. **Acrylamid** ist ein synthetisches hydrophiles Monomer. In Anwesenheit von **Ammoniumperoxosulfat (APS)** und **Tetramethylethyldiamid (TEMED)** polymerisiert es radikalisch. Das bedeutet, dass diese Stoffe Radikalstarter bzw. radikalische Katalysatoren sind – sie bilden **Radikale**, welche die Doppelbindung in der Struktur des Acrylamids angreifen können.



instabile Stelle = Bruchstelle zur Radikalbildung

Abb. 1: Radikalstruktur von APS

Dadurch hat das C1-Atom eine Bindungsstelle frei und verbindet sich mit einem weiteren

Acrylamid.

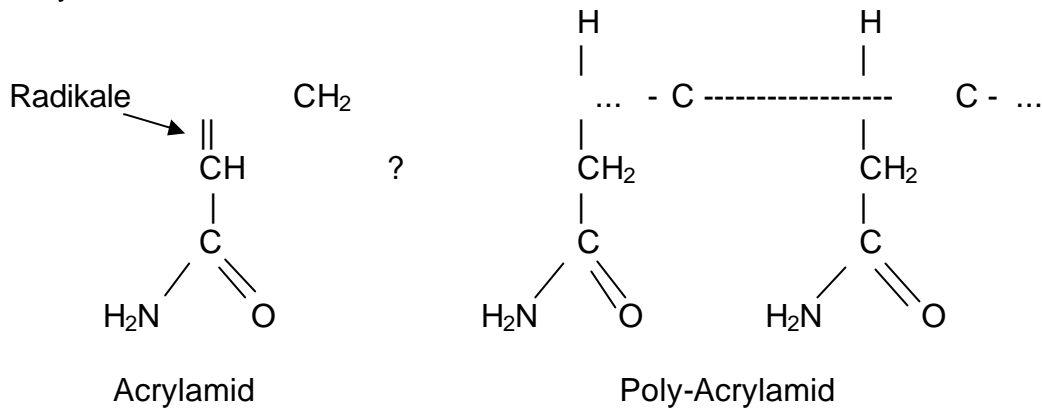


Abb. 2: radikalische Polymerisierung von Acrylamid

Damit APS und TEMED mehr Angriffspunkte haben, versetzt man das Acrylamid noch mit **Bisacrylamid**, welches zwei Doppelbindungen enthält.

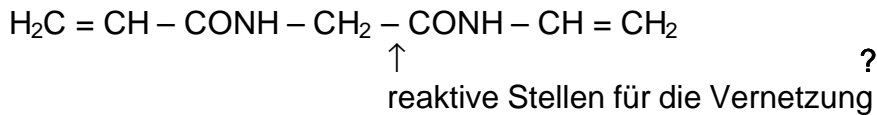


Abb. 3: Struktur des Bisacrylamid

Sodiumdodecylsulfat (SDS) ist ein anionisches Detergenz. Mit ihm werden die Proben vorbehandelt. Es denaturiert die Proteine und bindet an sie in einer Konzentration von etwa 1,4 g SDS pro g Protein. Das Protein wird dadurch so denaturiert, dass es in seine Sekundär- und teilweise sogar Primärstruktur zerfällt.

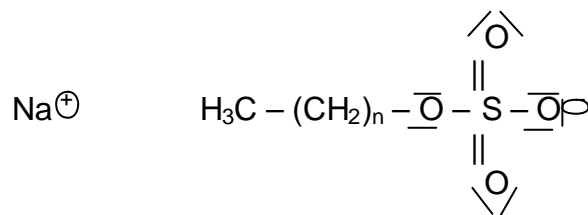


Abb. 4: Struktur des SDS

Um auch die Disulfidbrücken noch zu knacken, gibt man etwas **Mercaptoethanol** zur Probe. Das Protein wird dadurch so entfaltet, dass hydrophobe Aminoreste außen liegen. Durch hydrophobe Wechselwirkungen binden dann die SDS-Moleküle. Das Protein wird dadurch gleichmäßig negativ geladen und wandert so durch das Gel zur Anode. Dabei spielt außer der Molekülgröße nichts mehr eine Rolle. Damit auch wirklich alles denaturiert, wird die Probe noch kurz bei **100°C** gekocht. Die Zugabe von **Bromphenolblau** ermöglicht beim Elektrophoreselauf später eine visuelle Verfolgung.

Zur Auswertung wird das Gel mit dem Farbstoff **Coomassie Blau** in saurer Lösung gefärbt. Dieser Farbstoff bindet besonders gut an die hydrophoben Proteinbereiche. Bei dieser Färbung werden die Proteine fixiert und positiv geladen. Basische Proteine werden stärker

gefärbt als saure Proteine. Mit dieser Methode können Proteinkonzentrationen bis 0,1 µg nachgewiesen werden.

Unser Gel wurde aus Versehen in den falschen Farbstoff – nämlich **Ponceau Rot** – gelegt. Diese Färbemethode ist zwar ebenfalls für Proteine, allerdings für solche, die auf Nitrocellulosemembranen oder andere sehr dünne Matrizen transferiert wurden (z.B. beim Blotting). Um die Proteine in einem 2 mm dicken Gel zu färben eignet sich der Farbstoff nicht, wie wir später sehen werden.

Material

Geräte: Glasgeräte
Wägezubehör
Eppendorffpipetten (unterschiedliche Größen)
Pasteurpipette
Hamiltonspritze 10 µl
Laborzentrifuge Omnifuge 2.0 RS, Heraeus Instruments
Zentrifugenröhrchen, Glas, 25x89 mm von Schott Duran
Zentrifugengehänge Centri Lab von Heraeus Instruments
Ultraschallbad Sonorex RK 100H von Bandelin
Schüttler KS 250 basic von IK Labortechnik
Mini Protean II Electrophoresics Cell von BioRad
PowerPack 3000 von BioRad
Folienschweißgerät von Emide Elektronik

Untersuchungsmaterial:

- BSA, Rinderserum Albumin Fraktion V für biochemische Zwecke von Merck
- Alkohol-Dehydrogenase (ADH) für biochemische Zwecke von Merck
- Cellulase Onozuka R10 (von *Trichoderma viride*) von Merck
- Kaleidoscope Prestained Standards Control 92862 von BioRad:
 - Myosin 199,0 dalton
 - b-Galaktosidase 128,0 dalton
 - BSA 85,0 dalton
 - Carbonic anhydrase 41,7 dalton
 - Soybean trypsin inhibitor 32,1 dalton
 - Lysozyme 18,3 dalton
 - Aprotinin 7,5 dalton

Chemikalien:

- Trishydroxymehtylaminomethan (TRIS) $\text{H}_2\text{NC}(\text{CH}_2\text{OH})_3$, p.A. von Merck, R36/38, M= 121,14 g/mol
- Natriumdodecylsulfat Natriumsalz (SDS) $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{OSO}_3 \cdot \text{Na}$, M:288,38 von Pharmacia, R22-36/38, reizend und gesundheitsschädlich
- Glycerin 85%, ρ : 1,23 g/cm³ von Merck
- Mercaptoethanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{OS}$), 99%, M:78,13 g/mol, ρ : 1,12 g/ml, R22-24-34-51/53, S26-36/37/39-45-61, giftig, ätzend und umweltgefährdend
- Bromphenolblau $\text{C}_{19}\text{H}_{10}\text{Br}_4\text{O}_5\text{S}$, M:669,96 g/mol von Merck
- Glycin $\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2$, M:75,07 g/mol von Merck
- Methanol CH_3OH , M:32,04 g/mol, ρ : 0,79 g/cm³, R11-23/24/25-39, S7-16-36/37-45 von Merck
- Essigsäure 96%, CH_3COOH , ρ : 1,06 g/cm³, R10-35, S23.2-26-36/37/39-45, ätzend, von Merck
- Coomassie G250 Stain Färbelösung von BioRad
- Ammoniumperoxoisulfat (APS), M:288,2 g/mol, R8-22-42/43, S17-22-24-37-43 von

BioRad

- Acrylamid-Bis-Lösung, 40% für die Elektrophorese, krebserzeugend und hochgradig giftig, R45-46-E20/21-E25-36/38-43, S53-36/37-45 von Merck
- Tetramethylethyldiamin (TEMED) $C_6H_{16}N_2$, 116,21 g/mol, R11-20/22-34, S16-26-36/37/39-45, gesundheitsschädlich, von Merck
- Trichloressigsäure $C_2HCl_3O_2$, M:163,39 g/mol R35-50/53, S26-36/37/39-45-60-61 von Merck

Durchführung

1. Ansetzen der Lösungen

- beim Ansetzen der SDS- und acrylamidhaltigen Lösungen immer Handschuhe tragen, da die Substanzen hochgradig giftig, gesundheitsschädlich und krebserregend sind
- außerdem müssen mit diesen Lösungen kontaminierte Gegenstände speziell entsorgt werden
- Denaturierungspuffer

Tris

$$V = 0,01 \text{ l}$$

$$c = 0,0625 \text{ mol/l}$$

$$M = 121,14 \text{ g/mol}$$

$$m = 0,01 \text{ l} * 0,0625 \text{ mol/l} * 121,14 \text{ g/mol} = 0,0757 \text{ g}$$

SDS

$$100\% \rightarrow 10 \text{ ml}$$

$$2\% \rightarrow 0,2 \text{ g}$$

Glycerin

$$100\% \rightarrow 10 \text{ ml}$$

$$10\% \rightarrow 1 \text{ ml}$$

Bromphenolblau

$$100\% \rightarrow 10 \text{ ml}$$

$$0,05\% \rightarrow 0,005 \text{ g}$$

Mercaptoethanol

$$100\% \rightarrow 10 \text{ ml}$$

$$1\% \rightarrow 0,1 \text{ ml}$$

alle Zutaten in einem 10ml-Kolben mit Aqua dest. lösen, pH 6,8 mit HCl einstellen und bis zur Eichmarke auffüllen

- Sammelgelpuffer
 $V = 50 \text{ ml}$
 $m = 1,89 \text{ g Tris}$
im Messkolben lösen
pH 6,8 mit HCl einstellen
Lösung im Ultraschallbad entgasen
- Trenngelpuffer
 $V = 100 \text{ ml}$
 $m = 9,08 \text{ g Tris}$
pH 8,8 mit HCl einstellen
Lösung im Ultraschallbad entgasen
- Acrylamid-Bis Lsg. ist eine Fertiglösung, muss vor dem Pipettieren aber

im Ultraschallbad entgast werden

- SDS-Lösung $V = 5 \text{ ml}$
 $m = 0,5 \text{ g}$
in Aqua dest. lösen

- Elektrodenpuffer $V = 1000 \text{ ml}$
3 g Tris
14,5 g Glycin
1 g SDS

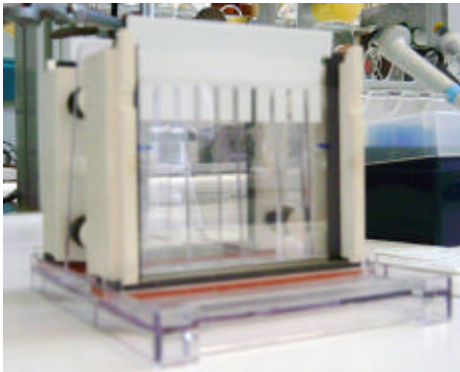
im Messkolben in Aqua dest. lösen, pH 8,3 mit HCl einstellen, kühl lagern

- Fixier- und Entfärbelösung $V = 500 \text{ ml}$
200 ml Methanol + 50 ml Essigsäure + 250 ml Aqua dest.

- Ammoniumperoxodisulfat $V = 1 \text{ ml}$
 $m = 0,1 \text{ g APS}$

auf 1 ml Lösung auffüllen mit Aqua dest., nicht lange aufbewahren

2. Gel herstellen



- zuerst macht man sich mit dem Mini Protean II von BioRad vertraut
- das Gerät wird vollständig zerlegt und gründlich gereinigt (es sollte fettfrei sein)
- dann die Apparatur wieder zusammenbauen und für das Giessen der Gele bereitstellen
- dabei darauf achten, dass die Platzhalter = spacer ordentlich ausgerichtet werden und die Apparatur fest auf den Gummiboden der Haltevorrichtung gedrückt wird (damit das Gel nicht ausläuft)
- auf der Plexiglasscheibe der Gelhalterung eine Markierung so anbringen, dass nach einstecken des Kammes das Sammelgel noch etwa 1 cm breit ist
- das Gel braucht relativ lange um zu polymerisieren
- die beiden Bestandteile des Gels werden wie folgt angesetzt:

	Trenngel 10%ig	Sammelgel 4%ig
Aqua dest.	1,1 ml	1,175 ml
Acrylamid-Bis	1,25 ml	0,25 ml
SG-Puffer	-	1 ml
TG-Puffer	2,5 ml	-
SDS-Lsg.	50 µl	25 µl
TEMED-Lsg.	2,5 µl	2,5 µl
APS-Lsg.	100 µl	50 µl
Gesamtvol.	5 ml	2,5 ml

- SDS, TEMED und APS erst kurz vor dem Giessen des Gel zu den anderen Bestandteilen hinzupipettieren, da sonst die Polymerisierung des Acrylamid ausgelöst wird
- mit einer Pasteurpipette wird nun zuerst zügig das Trenngel aufgetragen, indem man die Gellösung in einer Ecke der Kammer herunterlaufen lässt
- das Gel benötigt etwa 1-2 Stunden, bis es soweit polymerisiert ist, dass das Sammelgel aufgetragen werden kann (Kontrolle durch bewegen der Gelhalterung)
- nun das Sammelgel zusammenpipettieren und ebenfalls mit einer Pasteurpipette in oben genannter Weise auf das Trenngel auftragen
- den Probenkamm in das Sammelgel eintauchen, damit sich die Probenaschen ausbilden können
- das Gel polymerisieren lassen
- wenn man das Trenngel über Nacht stehen lassen will, deckt man es zum Schutz vor Austrocknung mit einer Schicht Isopropanol ab

3. Proben vorbereiten und auftragen

- Vorbereitung der ADH-Fractionen aus der „Enzymanreicherung“ (alter Versuch):
- verwendet wurden die Fractionen der drei Reinigungsschritte der Ammoniumsulfatfällung
 - Fraktion 1 = 35,873 mg Protein / 6,6 ml (60% Fällung)
 - Fraktion 2 = 19,228 mg Protein / 7,4 ml (40% + 80% Fällung)
- die Proteinkonzentration in der Probe (10 µl pro Tasche) sollte etwa 5– 250 µg betragen
- zur Reinigung werden die Fractionen noch einmal gefällt, und zwar mit Trichloressigsäure (TCES)
- die Proben werden mit dem 10fachen Volumen 72%iger TCES überschichtet und über Nacht im Kühlschrank gefällt
 - $6,6 \text{ ml} * 10 = 66 \text{ ml}$
 - $7,4 \text{ ml} * 10 = 74 \text{ ml}$
 - benötigte Menge an TCES = 140 ml
 - 108 ml TCES in einen 150 ml-Kolben geben und mit Aqua dest. auffüllen
 - Fraktion 1 mit 66 ml der Lösung mischen
 - Fraktion 2 mit 74 ml der Lösung mischen
 - über nacht im Kühlschrank fällen
 - 20 min bei 3000*g abzentrifugieren
 - Überstand verwerfen
 - Pellet in Denaturierungspuffer resuspendieren

- solange Tris hinzugeben, bis ein Farbumschlag von gelb nach blau = sauer nach basisch stattfindet
- von beiden Fraktionen wird je eine 1:10-Verdünnung hergestellt, die ebenfalls als Probe aufgetragen werden soll
- die 4 Proben werden bei 100°C im Wasserbad einige Minuten gekocht
- zum Vergleich werden weitere Proben angesetzt, deren Proteinkonzentration 100 µg / µl beträgt:
 - 1 ml Cellulase → 0,02 g/ml
 - 1 ml ADH → 0,02 g/ml
 - 1 ml BSA → 0,02 g/ml
 - daraus 300 µl Gemisch dieser drei zu je gleichen Teilen
- ansetzen von einer Verdünnung 1:10 dieses Gemisches
- die Proben werden mit der gleichen Menge Denaturierungspuffer versetzt und ebenfalls einige Minuten bei 100°C gekocht
- um jegliche Verunreinigung der Proben durch Grobpartikel auszuschließen zu können, werden die Proben noch einmal kurz abzentrifugiert

4. Beladen und Lauf des Gels

- der Kamm wird nun vorsichtig aus dem Gel entfernt
- mit einer 10 µl-Hamiltonspritze werden von jeder der 10 Proben 10 µl in je eine Probentasche des Gels gefüllt
- die Beladung des Gels erfolgt in dieser Reihenfolge:



1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Marker	ADH	BSA	Cellulase	Gemisch	Fraktion 1	Fraktion 2	Gemisch 1:10	Fraktion 1 1:10	Fraktion 2 1:10

- nun wird mit dem PowerPak eine konstante Spannung von 200 Volt angelegt
- der Widerstand sollte nicht höher als 150 Ω sein
- das Gerät läuft etwa 45 min, jedoch mindestens so lange, bis das Bromphenolblau am Ende des Gels angekommen ist
- dann wird der Strom abgeschaltet und die Gelhalterung aus der Elektrophoresekammer genommen

5. Gel färben und fixieren

- die Schrauben der Gelhalterung werden geöffnet
- die spacer werden herausgezogen und die oberer Plexiglasscheibe wird vorsichtig entfernt
- die Schicht des Sammelgels wird vom Trenngel abgetrennt und verworfen
- Achtung: das Gel ist sehr dünn und zerreißt leicht!
- jede Gruppe markiert ihr Gel durch charakteristische Einkerbungen; bei uns fehlt die Ecke oben links
- das Gel wird nun wie folgt weiterbehandelt:
 - 15 min in Fixierlösung
 - 45 min in Coomassie – Färbelösung
 - in Entfärbelösung solange, bis der Hintergrund farblos wird

- dabei befindet sich das Gel immer in einer Färbewanne auf dem Schüttler bei langsamen Bewegungen

6. Dokumentation

- das Gel wird eingeschweißt und eingescannt
- die sichtbaren Banden werden ausgewertet

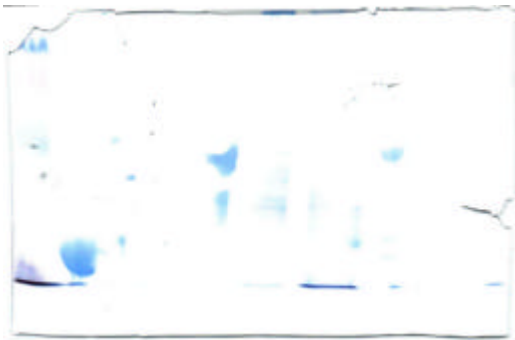
Ergebnisse

Unser Gel wurde von einer anderen Gruppe aus versehen in die falsche Färbelösung = Ponceau-Rot gelegt. Dadurch färbte es sich zunächst intensiv rosa. Nach langem Spülen in frischem Wasser wurde es langsam heller und sah dann so aus:



Gel Nr. 1: Ponceau-Färbung 1

Bei diesem Gel konnte nur der Marker ausgewertet werden. Die anderen Banden waren nicht zu erkennen. In der Folgewoche haben wir dann versucht, das Gel noch mit der richtigen Färbelösung = Coomassie zu färben. Während des Färbeprozesses waren die Banden auch sehr gut zu erkennen. Nach dem Bad in der Entfärbelösung entfärbten sich leider auch die Proteinbanden teilweise mit:



Gel Nr. 2: nachträglich Coomassie-Färbung

Bei diesem Gel ließ sich daher nicht einmal mehr der Marker auswerten, der im ersten Gel noch gut zu erkennen war. Ich habe aber das Gel von Mitschülern zur Auswertung genutzt:



Gel Nr. 3: reguläre Coomassie-Färbung

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10

Die Qualität des Scanners war hier zwar nicht so gut, aber man erkennt die einzelnen Banden der Proteine und kann das Gel somit auswerten.

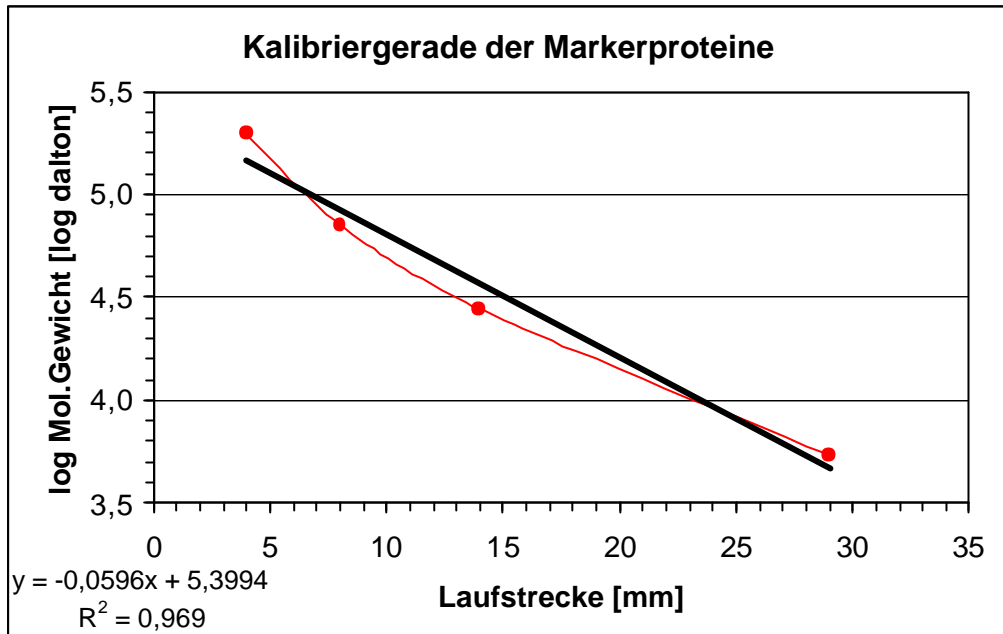
Auswertung

In Gel Nr. 3 erkennt man deutlich die 10 Spuren des Elektrophoreselaufs. Spur 1 ist der Marker. Von ihm erkennt man in unterschiedlichen Farben die vier oben genannten Banden. Es lässt sich eine Kalibriergerade erstellen. In den Spuren 2 (ADH) und 3 (BSA) war die Konzentration des Proteins anscheinend etwas hoch. Es konnte sich keine scharfe Bande ausbilden. Stattdessen ist ein verschmierter Fleck entstanden. Die Bande der Cellulase in Spur 4 ist nicht zu erkennen. Auch im Gemisch ist sie nicht eindeutig auszumachen. Vielleicht ist das Gel für dieses Protein nicht lange genug gelaufen? Bande 5 zeigt die Proteine der ADH-Fraktion mit der hohen Proteinkonzentration. Auf Höhe der ADH-Vergleichsprobe ist hier eine Bande zu erkennen. Das Gleiche gilt für Spur 7. Auch im Gemisch in Spur 8 ist die Bande des ADH und der BSA zu erkennen. Die Verdünnung der beiden Fraktionen in den Spuren 9 und 10 war anscheinend zu stark. Hier sind im Scan keine Banden mehr zu erkennen.

Unser Gel Nr. 1+2 ist etwas schneller und somit weiter gelaufen als das Gel Nr. 3 der Mitschüler. Daher hätte sich unser Gel genauer auswerten lassen. Ich habe aber Gel Nr. 3 ausgewertet. Die Werte sahen im Einzelnen so aus, wobei ich die Länge der Laufstrecke immer am oberen Rand der jeweiligen Bande abgelesen habe:

sichtbare Banden	Mol.-Gewicht [Dalton]	lg Mol.-Gewicht	Laufstrecke [mm]
Myosin	199	5,293	4
b-Galaktosidase	128	4,852	8
BSA	85	4,443	14
Carbonic anhydrase	41,7	3,731	29

Aus diesen Werten erstellt man nun eine Kalibriergerade der im Marker enthaltenen Proteine, indem man die Laufstrecke der einzelnen Proteine gegen den Logarithmus des Molekulargewichtes aufträgt:



Die Wertepunkte sollten schon möglichst in einer Geraden liegen. Zur Bestimmung der Güte dieser Punkte legt man eine Regressionsgerade durch die Punkte und lässt sich deren Formel und Bestimmtheitsmaß anzeigen. Je näher R^2 an 1 liegt, desto besser. Mit der Kalibriergeraden oder der Formel kann man nun zeichnerisch oder rechnerisch das Molekulargewicht anderer Banden im Gel bestimmen, indem man die Laufstrecke abgreift und dann eine Waagerechte auf die Kalibriergerade legt. Der Schnittpunkt ergibt den Logarithmus des gesuchten Molekulargewichtes, welcher nur noch entlogarithmiert werden muss.

Im einzelnen kann man das Gel Nr. 3 wie folgt auswerten:

Spur	Probe	Anzahl Banden	Laufstrecke [mm]					
			4	8	14			
1	Marker	4	4	8	14			29
2	ADH	1					25	
3	BSA	1			14			
4	Cellulase	0						
5	Gemisch	2			14		25	
6	Fraktion 1	3			14	17	25	
7	Fraktion 2	3			14	17	25	
8	Gemisch 1:10	2			14		25	
9	Fraktion 1 1:10	0						
10	Fraktion 2 1:11	0						

Daraus ergeben sich folgende Molekulargewichte der verschiedenen Stoffe, wenn man die Daten in der Kalibriergeraden abträgt:

- 4 mm = 5,27 In Dalton = 194,42 Dalton (Myosin)
- 8 mm = 4,93 In Dalton = 138,38 Dalton (b-Galktosidase)
- 14 mm = 4,56 In Dalton = 95,68 Dalton (BSA)
- 17 mm = 4,38 In Dalton = 79,84 Dalton (unbekannt)
- 25 mm = 3,89 In Dalton = 49,40 Dalton (ADH)

29 mm = 3,66 ln Dalton = 38,86 Dalton (Carbonic anhydrase)

Rechnerisch ermittelt man diese Ergebnisse, wenn man die Lausstrecke für x in die Formel der Geraden einträgt:

$$\ln M_{\text{BSA}} = -0,0596 * 14 + 5,3994 \\ = 4,565$$

$$e^{4,565} = 96,06 \text{ Dalton} = M_{\text{BSA}}$$

Auf dieselbe Art und Weise lassen sich für die anderen Proteine folgende Molekulargewichte ermitteln:

$$M^{\text{ADH}} = 49,87 \text{ Dalton}$$

$$M^{\text{Myo}} = 174,34 \text{ Dalton}$$

$$M^{\text{b-Gal}} = 137,36 \text{ Dalton}$$

$$M^{17 \text{ unb.}} = 80,33 \text{ Dalton}$$

$$M^{\text{Car. Anh.}} = 39,29 \text{ Dalton}$$

Fehlerdiskussion

Vergleicht man das ermittelte Molekulargewicht mit den jeweiligen Literaturwerten, liegen die Werte zwar in der Region der Literaturwerte, es bestehen aber gewisse Differenzen. Ich habe die Standardabweichung im Bezug auf die Literaturwerte ermittelt. Bei dem großen Molekülen ist die Abweichung höher als bei den kleineren Proteinen. Je kleiner die Proteine werden, desto genauer ist also die Methode.

	Mol.-Gewicht in Dalton			Standard- abweichung
	Literaturwert	zeichnerisch	rechnerisch	
Myosin	199	194,42	174,34	13,116773
b-Gal	128	138,38	137,36	5,72122365
BSA	85	95,68	96,06	6,2786729
unbekannt		79,84	80,33	
ADH		49,4	49,87	
Car. Anh.	41,7	38,86	39,29	1,53071879

Quellenangaben

- Biochemie light, H. Rehm und F. Hammar im Harry-Deutsch-Verlag
- Materialien aus Theorieunterricht und Praktikum
- <http://www.uni-duesseldorf.de/www/MedFak/KlinChem/Leistungsverzeichnis/Parameter/sds-page.htm>
- <http://strucbio.biologie.uni-konstanz.de>
- <http://www.uni-giessen.de/plant.nutrition/achim/teil2/img23.htm>
- <http://www.biologie.de/Skripte/methodenprotokolle/htm/SDS-PAGE.htm>
- <http://www.biologie.fu-berlin.de/lampart.htm>